

THESIS

WURZBURG

1967

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

Zur Methodik der Abtrennung des radioaktiv
markierten proteingebundenen Serum-Jods

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Helmut Loewenheim
aus
Brückenau

Würzburg 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153518_0070

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

Zur Methodik der Abtrennung des radioaktiv
markierten proteingebundenen Serum-Jods

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Helmut Loewenheim
aus
Brückenau

Würzburg 1967

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Wilhelm Börner

Korreferent: Professor Dr. med. Hans Franke

Tag der Promotion: **27. 6. 67**

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG	1
2.	GRUNDSÄTZLICHES ZUR METHODIK	2
2.1	<u>Bisherige Bestimmung des 48-Stunden PG^{131}J nach der Trichloressigsäure-Methode</u>	2
2.2	<u>Vorgehen bei Bestimmung der Zweistunden-Umwandlungsrate</u>	2
2.3	<u>Volumenkorrektur</u>	3
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	4
3.1	<u>Fällung des PG^*J mit Trichloressigsäure</u>	4
3.11	Versuchsdurchführung	4
3.12	Ergebnisse bei der TCE-Fällung	6
3.13	Praktische Folgerungen für die TCE-Methode	7
3.2	<u>Trennung von Hormonjod und Jodid durch Ionenaustauscher</u>	8
3.21	Art der Säule	8
3.211	Abdichtung der Polyvinylsäule	9
3.212	Vergleich von Polyvinyl- und Chromatographiesäule	10
3.22	Die Abtrennung von Jodid in Abhängigkeit von Fritte und Ionenaustauscher	11
3.23	Sättigung des Ionenaustauschers	14
3.231	Die Sättigung bei "Hormon"-Serum	14
3.232	Die Sättigung bei "Jodid"-Serum	14
3.24	Praktische Folgerungen für die Ionenaustauschermethode	15
3.3	<u>Vergleich von Ionenaustauscher- und TCE-Methode</u>	16

3.4	<u>Abhängigkeit der Untersuchungsergebnisse von der Aktivitätskonzentration</u>	16
3.5	<u>Anwendung in der Schilddrüsendiagnostik</u>	17
4.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	18
4.1	<u>Allgemeine Probleme bei der Messung des PG*J</u>	18
4.2	<u>Trichloressigsäure-Fällung</u>	19
4.3	<u>Abtrennung des Jodids durch Ionenaustauscherharze</u>	20
4.4	<u>Abhängigkeit von der Aktivitätskonzentration</u>	22
5.	ZUSAMMENFASSUNG	23
6.	LITERATURNACHWEIS	25

Verzeichnis der Abkürzungen

Gesamt*J	radioaktiv markiertes Gesamtjod
*J ⁻	radioaktiv markiertes Jodid, z.B. $^{131}\text{J}^-$, $^{132}\text{J}^-$, $^{125}\text{J}^-$
PGJ	proteingebundenes Jod
PG*J, PG ^{131}J	radioaktiv markiertes, bzw. ^{131}J -markiertes, proteingebundenes Jod
p.a.	"pro analysi"
TCE	Trichloressigsäure
Ipm	Impulse pro Minute
/ μCi	Microcurie (1 μCi = 10^{-6}Ci , $2,22 \cdot 10^6$ Zerf./min)
nCi	Nanocurie (1 nCi = 10^{-9}Ci , 2220 Zerf./min)

1. EINLEITUNG

Radioaktives Jod wird heute in der Schilddrüsen-diagnostik routinemäßig angewendet. Am meisten verbreitet ist der ^{131}J -Zweiphasentest (Langtest). Dabei wird die Radiojodspeicherung der Schilddrüse über einen Zeitraum von 2 Tagen verfolgt und nach 48 Stunden das Gesamtserum- ^{131}J und das proteingebundene ^{131}J (PG^{131}J) bestimmt.

Im Bestreben, die Strahlenbelastung bei in vivo-Tests zu vermindern, wurden kurzlebige Jodisotope, so z.B. ^{132}J , in die Schilddrüsendiagnostik eingeführt. Diese Kurztests mit ^{132}J hatten jedoch den wesentlichen Nachteil, daß wegen der Halbwertszeit des Nuklids die Hormonphase nicht in der üblichen Weise erfaßt werden konnte. Von BÖRNER und MOLL (1) wird daher vorgeschlagen, bereits 2 Stunden nach Testbeginn die Umwandlungsrate zu bestimmen und somit den Kurztest zu einem Zweiphasentest zu erweitern. Unter der Umwandlungsrate verstehen wir den Anteil des zugeführten markierten Jods, der zu einem bestimmten Zeitpunkt in proteingebundener Form vorliegt. Im Rahmen des Radiojod-Zweiphasenlangtests bestimmen wir das PG^{131}J bisher routinemäßig nach der Methode von CLARK et al. (3) in leicht abgewandelter Form. Andere Arbeitsgruppen benutzen zur Abtrennung des PG^{*}J von $^{*}\text{J}^{-}$ Ionenaustauscherharze nach dem Vorschlag von REILLY et al. (17, 18). Ziel der vorliegenden Arbeit soll es sein, beide Methoden auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen und gegebenenfalls so zu modifizieren, daß sie zuverlässig und rationell durchführbar sind.

2. GRUNDSÄTZLICHES ZUR METHODIK

2.1 Bisherige Bestimmung des 48-Stunden-PG¹³¹J nach der Trichloressigsäure-Methode

Beim ¹³¹J-Zweiphasentest wird das Gesamtserum-¹³¹J und PG¹³¹J 48 Stunden nach dem Verabreichen der Testdosis bestimmt. Zunächst registrieren wir die Impulse pro Minute (Ipm) in 1 ml Patientenserum durch 4minütiges Messen der Probe in einem Szintillationszähler mit Bohrlochkristall. Bei der nun folgenden Fällung des PG¹³¹J mit 5 ml einer 10%igen TCE lassen wir die Säure 10 Minuten auf das Präzipitat einwirken. Wichtig ist dabei, daß Serum und TCE gleichmäßig vermengt werden, damit sich der Niederschlag nicht zusammenballt. Anschließend zentrifugieren wir das an Eiweiß gebundene ¹³¹J ab und messen den Niederschlag im Bohrlochdetektor. Es folgt nun eine Waschung mit 10%iger TCE: Das abzentrifugierte PG¹³¹J wird erneut mit 5 ml TCE versetzt und mit einem Glasstab aufgerührt. Nach nochmaligem Zentrifugieren messen wir das PG¹³¹J-Sediment in gleicher Weise wie das Gesamtserum.

2.2 Vorgehen bei Bestimmung der Zweistunden-Umwandlungsrate

Die Zweistunden-Umwandlungsrate wurde eingeführt, um auch bei kurzlebigen Jodisotopen die Hormonphase direkt erfassen zu können. Bei ¹³²J, welches für Radiojod-Kurztests häufig angewandt wird, kommt es wegen der Halbwertszeit von 2,3 Stunden darauf an, die Eiweißfällung und Messung möglichst rasch durchzuführen. Da die Impulsrate einerseits durch den geringen Anteil des proteingebundenen Jods, andererseits durch den bereits erfolgten radioaktiven Abfall sehr gering ist, verwenden wir bei der Bestimmung der Zweistunden-Umwandlungsrate statt 1 ml 5 ml Serum. Damit erreichen wir eine höhere statistische Genauigkeit. Die oben beschriebene Methode ändern wir deshalb wie folgt ab:

Zwei Stunden nach der Applikation der Testdosis wird dem Patienten Venenblut entnommen und dann das Serum abzentrifugiert. Die Impulsrate des Gesamtserum ^{131}J wird durch eine 10minütige Messung im Bohrlochdetektor bestimmt. Anschließend fällen wir das Eiweiß mit 5 ml 10%iger TCE und lassen diese 10 Minuten einwirken. Dabei wird das Präzipitat von Zeit zu Zeit mit einem Glasstab aufgerührt. Nach 10minütigem Zentrifugieren wird der Überstand dekantiert und das Sediment unter Aufrühren mit 5 ml 10%iger TCE gewaschen. Nach dem Abzentrifugieren erfolgt die Messung im Bohrlochdetektor.

2.3 Volumenkorrektur

Bei der Messung im Bohrloch hängt die Zählgeometrie in starkem Maße von der Füllhöhe des Probenglases und damit vom Flüssigkeitsvolumen ab. Deshalb mußten Korrekturfaktoren ermittelt werden. Hierzu wurden 0,1 $\mu\text{Ci Na }^{131}\text{J}$ in ein Volumen von 0,1 ml auf den Boden eines Zentrifugenglases einpipettiert, die Impulsrate im Bohrlochszintillationszähler gemessen und gleich 100 % gesetzt. Sodann wurde das Volumen nacheinander auf 0,2, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 ... bis 10 ml vergrößert und jeweils die Impulsrate gemessen. Die relative Impulsrate in Abhängigkeit vom Flüssigkeitsvolumen ist in Abb. 1 graphisch dargestellt.

relative Impulsrate (%)

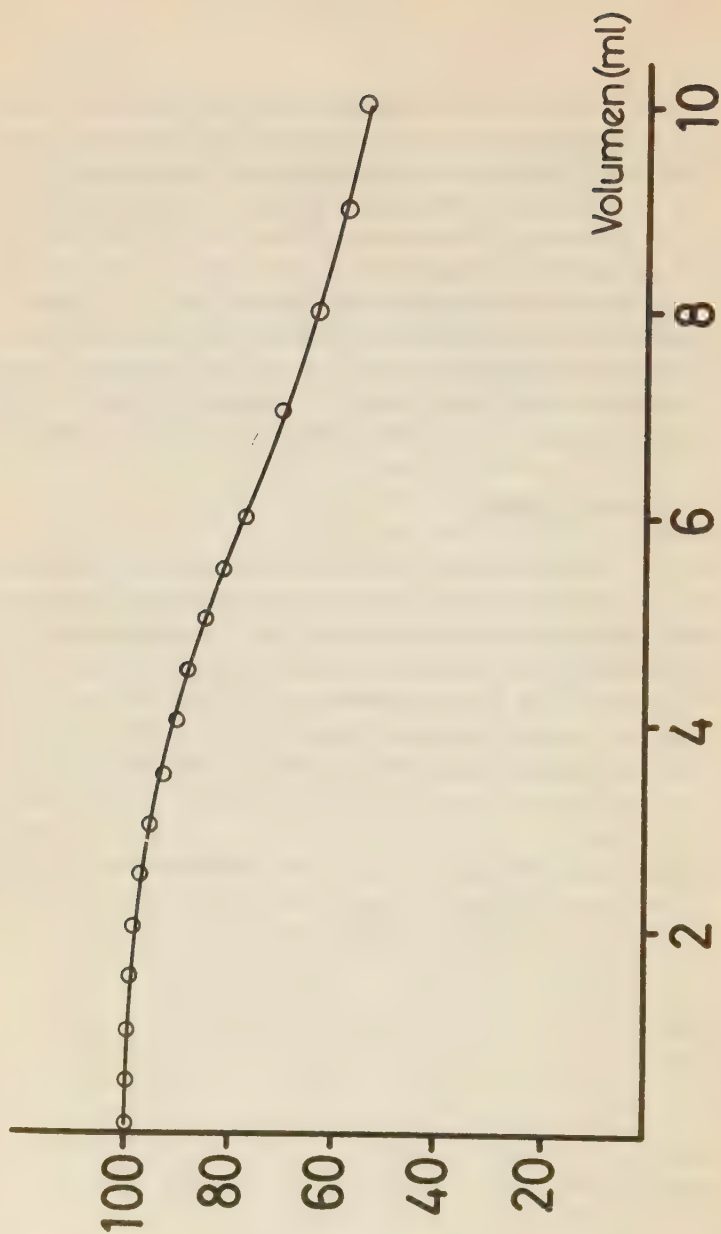


Abb. 1: Kurve zur Volumenkorrektur

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Fällung des PG^{*}J mit Trichloressigsäure

Bei vollständiger Trennung von anorganischem und Hormonjod sollte das gesamte PGJ im Niederschlag, das ganze Jodid dagegen im Überstand zu finden sein.

In den folgenden Versuchsreihen wird geprüft, ob bei der Fällung Jodid mitgerissen wird und ob das PG^{*}J vollständig im Niederschlag enthalten ist. Außerdem soll das Ausmaß eines Verlustes von PG^{*}J bei den Waschvorgängen ermittelt werden. Diese Untersuchungen werden mit TCE verschiedener Konzentration durchgeführt.

3.11 Versuchsdurchführung

Die folgenden Untersuchungen führen wir mit drei Modellserven durch:

I. "Jodid"-Serum

Dieses Serum soll ^{131}J nur in anorganischer Form enthalten. Daher werden $2\text{ }\mu\text{Ci } ^{131}\text{J}^{-}$ in 2 ml 1%iger nicht radioaktiver NaJ -Lösung als Träger gegeben und mit einem Gemisch nicht aktivem Serums auf 100 ml verdünnt. Die Aktivitätskonzentration beträgt somit 20 nCi/ml, das entspricht etwa 27000 Ipm/ml.

II. "Hormon"-Serum

Dem Serum von Patienten, die einige Tage oder Wochen vor Abnahme des Blutes wegen einer Hyperthyreose mit Radiojod behandelt wurden, haben wir der Vergleichbarkeit halber pro 100 ml Gesamtvolumen 2 ml nicht aktive 1%ige NaJ -Lösung zugefügt. Wir können annehmen, daß in diesem Serum anorganisches ^{131}J gegenüber PG^{131}J keine nennenswerte Rolle spielt. Falls erforderlich, wird das Serum der Therapiepatienten mit inaktivem Serum

so verdünnt, daß die Aktivität etwa derjenigen des "Jodid"-Serums entspricht.

III. "Jodid-Hormon"-Serum

Dieses Serum entspricht dem Serum II; die zuge-setzte NaJ-Lösung enthält jedoch wie in Serum I 20 nCi/ml Na¹³¹J (Kombination der Seren I und II).

Da die Impulsrate bei den Testseren I und II etwa 27000 Ipm/ml beträgt, ist sie bei Reihe III doppelt so hoch. Bei allen Versuchen wird nach der Fällung die Impulsrate von Niederschlag und Überstand gemessen. Anschließend führen wir - im Gegensatz zu unserer Standard-methode (vgl. S. 2) - eine zweimalige Waschung durch. Vorversuche mit 40, 20, 10, 5 und 2%iger TCE haben er-gaben, daß sowohl bei sehr niedriger, als auch bei sehr hoher Säurekonzentration größere Fehler auftreten. Die folgenden Untersuchungen wurden daher nur mit 10 und 20%iger TCE vorgenommen. Entsprechend den in der Ein-leitung genannten Problemen werden alle Versuche sowohl mit 1 ml, als auch mit 5 ml Serum - jeweils als Doppel-bestimmungen - durchgeführt. Wegen des begrenzten Vo-lumens der Gläser konnten auch bei den 5ml-Serumproben nur 5 ml TCE hinzupippettiert werden.

Ein Beispiel für das Verfahren zur Berechnung der Aktivitätsanteile in Niederschlag und Überstand ist in Tab. 1 angeführt. Der Rechnungsgang ist folgendermaßen:

1. Die Nettoimpulse werden mit Hilfe der Korrek-turkurve (Abb 1) auf ein Füllvolumen von 1 ml umgerechnet. Damit sind die Meßergebnisse bei unterschiedlicher Füllhöhe vergleichbar. Für die Aktivität im Niederschlag ist wegen des ge-ringen Volumens keine Korrektur erforderlich.
2. Für das "Jodid"-Serum und das "Hormon"-Serum werden die Aktivitätsanteile in Niederschlag, Überstand und Waschflüssigkeit in Prozent der jeweiligen Gesamtaktivität ausgedrückt.
3. Um Vergleiche mit den Testseren I und II anstel-len zu können, beziehen wir beim "Jodid-Hormon"-Serum die Aktivität im Präzipitat auf den Mit-

Tab. 1: Beispiel für die Berechnung der Aktivität in Niederschlag und Überstand (5 ml "Jodid"-Serum; 20%ige TCE)

Gesamtserum	Ipm netto	Ipm korr.
1. Bestimmung	$87025 \cdot \frac{1}{0,84} =$	103601
2. Bestimmung	$86621 \cdot \frac{1}{0,84} =$	103120
Mittelwert von 1. u. 2.	$86823 \cdot \frac{1}{0,84} =$	103361

TCE- Fällung	NIEDERSCHLAG			ÜBERSTAND		
	netto	korr.	%	netto	korr.	%
1. Bestimmung	$16933 \cdot 1,0 =$	16933	16,3	$61057 \cdot \frac{1}{0,60} =$	101762	98,2
2. Bestimmung	$16905 \cdot 1,0 =$	16905	16,4	$53382 \cdot \frac{1}{0,60} =$	88970	86,3
Mittelwert von 1. u. 2.	$16919 \cdot 1,0 =$	16919	16,4	$57220 \cdot \frac{1}{0,60} =$	95360	92,3
1. WASCHUNG						
1. Bestimmung	$2307 \cdot 1,0 =$	2307	2,2	$11907 \cdot \frac{1}{0,84} =$	14175	13,7
2. Bestimmung	$2820 \cdot 1,0 =$	2820	2,7	$12378 \cdot \frac{1}{0,84} =$	14736	14,3
Mittelwert von 1. u. 2.	$2564 \cdot 1,0 =$	2564	2,5	$12143 \cdot \frac{1}{0,84} =$	14456	14,0
2. WASCHUNG						
1. Bestimmung	$389 \cdot 1,0 =$	389	0,4	$1695 \cdot \frac{1}{0,84} =$	2018	2,0
2. Bestimmung	$555 \cdot 1,0 =$	555	0,5	$2056 \cdot \frac{1}{0,84} =$	2448	2,4
Mittelwert von 1. u. 2.	$472 \cdot 1,0 =$	472	0,5	$1876 \cdot \frac{1}{0,84} =$	2233	2,2

telwert der Gesamtaktivität des "Hormon"-Serums, die Aktivität des Überstandes dagegen auf die mittlere Gesamtaktivität des "Jodid"-Serums.

4. Im Ergebnis werden die Mittelwerte der Doppelbestimmungen angegeben.

3.12 Ergebnisse bei der TCE-Fällung

Die Ergebnisse der Versuche mit den 3 Modellseren sind in den Tabellen 2 und 3 zusammengefaßt. In den ersten Spalten ist der prozentuale Anteil der Aktivität in Niederschlag und Überstand nach der Fällung aufgeführt. Anschließend finden sich die entsprechenden Prozentwerte nach ein- bzw. zweimaligem Waschen.

Die Ergebnisse zeigen folgendes:

1. Wenn man bei der Fällung die Aktivitätsanteile von Niederschlag und Überstand addiert, ergeben sich vor allem bei den Versuchen mit 5 ml Serum größere Abweichungen von 100 %. Es konnte nachgewiesen werden, daß dieser Fehler bei der Korrektur der großen Flüssigkeitsvolumina des Überstandes und - in geringem Maße - des Gesamtserums entsteht. Dieser Fehler beruht hauptsächlich auf dem schwankenden Innendurchmesser der Zentrifugengläser.
Der hieraus resultierende Relativfehler bleibt aber im allgemeinen kleiner als 10 %. Er ist deshalb für die Relation zwischen Niederschlag und Überstand, auf die es ankommt, von untergeordnetem Einfluß.
2. Die Versuche mit "Jodid"-Serum zeigen, daß bei der Eiweißfällung Jodid mitgerissen wird. Dieser, besonders bei 5 ml Serum recht beträchtliche Anteil, geht durch das Waschen stark zurück.
3. Bei der Fällung von "Hormon"-Serum befinden sich noch zwischen 1 % (5 ml-Versuch) und 2 - 4 % (1 ml-Versuch) der Gesamtaktivität im Überstand. Unter Berücksichtigung des in Punkt 1 erwähnten Fehlers enthält der

Tab. 2: Mittelwerte der Aktivität in Niederschlag und Überstand bei der TCE-Methode für 1 ml Serum (Werte der bisherigen Standardmethode umrandet)

Modell-Serum	TCE-Konz.	F ä l l u n g		1. W a s c h u n g		2. W a s c h u n g	
		Nieder-schlag %	Überstand %	Nieder-schlag %	Überstand %	Nieder-schlag %	Überstand %
I "Jodid"-Serum	20%	3,9	97,8	0,4	3,8	0,2	0,5
	10%	8,2	94,1	1,2	7,8	0,4	1,0
II "Hormon"-Serum	20%	95,1	4,3	91,0	4,0	87,1	3,1
	10%	96,8	2,1	96,4	1,6	92,3	1,5
III "Jodid-Hormon"-Serum	20%	99,4	105,9	92,6	9,3	88,1	4,7
	10%	104,5	97,0	96,4	9,2	93,7	2,9
I + II	20%	99,0	102,1	91,4	7,8	87,3	3,6
	10%	105,0	96,2	97,6	9,4	92,7	2,5

Tab. 3: Mittelwerte der Aktivität in Niederschlag und Überstand bei der TCE-Methode für 5 ml Serum (Werte der bisherigen Standardmethode umrandet)

Modell-Serum	TCE-Konz.	F ä l l u n g		1. W a s c h u n g		2. W a s c h u n g	
		Nieder-schlag %	Überstand %	Nieder-schlag %	Überstand %	Nieder-schlag %	Überstand %
I "Jodid"-Serum	20%	16,4	92,3	2,7	14,0	0,5	2,2
	10%	31,1	77,9	10,2	20,4	3,3	7,5
II "Hormon"-Serum	20%	91,0	1,0	88,9	0,9	86,9	1,0
	10%	93,2	0,9	90,8	0,4	89,8	0,4
III "Jodid-Hormon"-Serum	20%	104,8	89,5	93,2	13,7	90,5	3,2
	10%	116,7	80,6	99,1	19,7	92,9	7,3
I + II	20%	107,6	93,3	91,6	14,9	87,4	3,2
	10%	124,8	78,8	101,0	20,8	93,1	7,9

Niederschlag daher 99 % bzw. 96 % bis 98 % der Aktivität des "Hormon"-Serums.

Um zu entscheiden, ob es sich um eine unvollständige PG^*J -Fällung handelt oder ob sich im Serum des Therapie-Patienten nachweisbare Mengen von anorganischem $^*\text{J}$ befinden, schicken wir den Überstand durch einen Anionenaustauscher. Da von diesem 80 bis 90 % der Aktivität eliminiert werden, ist anzunehmen, daß es sich bei der nicht gefällten Aktivität vorwiegend um Jodid und nur zum kleineren Teil um eine unvollständige Fällung des PG^*J handelt.

4. Bei jeder Waschung gehen bei 1 ml Serum durchschnittlich 2 %, bei 5 ml Serum durchschnittlich 3 % der Aktivität des Niederschlags verloren. Die Tatsache, daß der Verlust bei den einzelnen Waschungen annähernd gleich ist, läßt darauf schließen, daß es sich hauptsächlich um PG^*J und nicht um J^- handelt.
5. Mit steigender TCE-Konzentration sinkt der Fehler durch mitgerissenes Jodid; dagegen nimmt der Fehler durch unvollständige Fällung des PG^*J zu.
6. Bei dem Serum der Versuchsreihe III, das gleichzeitig $^{131}\text{J}^-$ und PG^{131}J enthält, treten verständlicherweise beide Fehler (Punkt 2 und 3) gleichzeitig auf. Wegen ihrer Gegenläufigkeit heben sie sich im Ergebnis, je nach der Zusammensetzung des Serums, mehr oder weniger stark auf. Die Summe der Aktivitätsanteile von Reihe I und II zeigt wegen der sehr guten Übereinstimmung mit der Versuchsreihe III, daß sich $^{131}\text{J}^-$ und PG^{131}J gegenseitig nicht beeinflussen. Damit wird die Brauchbarkeit unseres methodischen Vorgehens bestätigt.

3.13 Praktische Folgerungen für die TCE-Methode

1. Bei 1 ml Serum ist der absolute Fehler dann am geringsten, wenn mit 10%iger TCE gefällt und das Präzipitat einmal mit der gleichen Säure gewaschen wird. Eine höhere Konzentration der TCE vermindert zwar den Feh-

ler durch mitgefälltes Jodid, gleichzeitig treten aber bei der Abtrennung und beim Waschen größere Verluste an PG^{131}J auf.

2. Durch das Volumen des Zentrifugenflases ist die Menge der zusetzbaren TCE begrenzt. Deshalb ist für 5 ml Serum eine 10%ige Konzentration der Säure unzureichend, da wegen der zu niedrigen TCE-Konzentration ein erheblicher Anteil des Jodids mitgerissen wird. Dieser Fehler wirkt sich besonders stark auf die Berechnung der 2-Stunden-Umwandlungsrate aus, da der Anteil des in Hormon umgewandelten Jods zu diesem frühen Zeitpunkt bei normaler Schilddrüsenfunktion noch sehr klein ist.
3. Ein einmaliges Waschen des Niederschlags genügt. Insbesondere bei 5 ml Serum würde eine zweite Waschung die Auftrennung von Jodid und Hormonjod verbessern. Dieses Vorgehen ist jedoch mit erheblich größerem Arbeitsaufwand belastet. Außerdem führt mehrmaliges Waschen zu einer Verringerung der Aktivität im Niederschlag.

3.2 Trennung von Hormonjod und Jodid durch Ionenaustauscher

Manche Autoren verwenden Ionenaustauscherharze zur Trennung von Jodid und Hormonjod (REILLY et al. 17, 18). Der Ionenaustauscher wird hierzu in einen Kunststoff- oder Glaszylinder gebracht und das Serum durch diese Säule geschickt. In den folgenden Untersuchungen wird die Trennung von organischem und anorganischem Jod in Abhängigkeit von Säulentyp, Ionenaustauscherart und -menge geprüft.

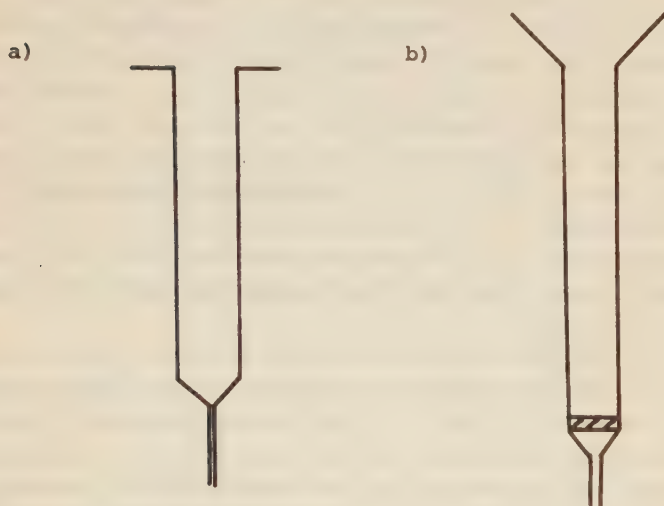
3.21 Art der Säule

Die Versuche führten wir mit einfachen, unten offenen Polyvinylsäulen und sogenannten Chromatographiesäulen mit eingeschmolzener Glasfritte durch (Abb. 2)

Abb. 2: Schema der Ionenaustauscher-Säulen

a) Polyvinyl-Säule (Fa. Abbott)

b) Chromatographiesäule mit Glasfritte



3.211 Abdichtung der Polyvinylsäule

Die zunächst geprüfte Polyvinylsäule (vgl. Abb. 2a) besteht aus einem Kunststoffzylinder von 70 mm Länge und 12 mm Innendurchmesser. Das Auslaufende mündet in einer lang ausgezogenen Spitze. Diese Polyvinylsäulen werden von der Firma Abbott für ihre Harzsuspension empfohlen. Als Nachteil dieser Säule wird angeführt, daß der dichte Abschluß des Auslaufendes durch die mitgelieferten Filterpapierscheibchen nicht unbedingt gewährleistet sei und daher Ionenaustauscherkörnchen in das Filtrat gelangen könnten (25). Zum Vergleich haben wir deshalb in Parallelversuchen die Säulen mit den genannten Filterpapierscheibchen, mit Watte und mit Glaswolle abgedichtet. In die Polyvinylsäulen werden jeweils 1,8 ml des Ionenaustauschers IRA 400(Cl), Reinheitsgrad pract. eingeschlämmt.

Zusätzlich wird Serum auch mit TCE gefällt und die Aktivität im Niederschlag nach unserer Standardmethode bestimmt (vgl. S. 2 oben).

Die Eliminationsfähigkeit des Ionenaustauschers für Jodid prüfen wir mit dem früher beschriebenen "Jodid"-Serum. Alle Versuche werden 4fach durchgeführt und der Mittelwert berechnet. Die im Filtrat der 1 ml "Jodid"-Serum-Proben enthaltene Aktivität ist sehr gering. Sie beträgt bei Abdichtung sowohl mit Filterpapier, als auch mit Glaswolle 0,1 %, bei Verwendung von Watte 0,03 % des zugegebenen $^{131}\text{J}^-$. Die Eiweißfällung mit TCE ergibt dagegen eine durchschnittliche Aktivität von 2,3 %. Dieser Wert liegt signifikant über demjenigen der Ionenaustauschermethode.

Bei Verwendung von 5 ml "Jodid"-Serum sind bei Abdichtung der Chromatographiesäule mit Glaswolle und Watte im Filtrat 1,8 bzw. 1,3 % der Ausgangsaktivität enthalten. Setzt man dem Filtrat 2,5 ml 40%ige TCE zu und zentrifugiert den Niederschlag ab, so beträgt die im Präzipitat enthaltene Aktivität nur noch 0,3 % der des Gesamtserums. Die zum Vergleich durchgeführte TCE-Methode ergibt dagegen nach einmaligem Waschen eine Aktivität von 2,3 % im Präzipitat.

3.212 Vergleich von Polyvinyl- und Chromatographiesäule

Wegen der einfacheren Handhabung und der gleichmäßigeren Bedingungen führen wir die entsprechenden Versuche auch mit Chromatographiesäulen (vgl. Abb. 2b) durch. Diese bestehen aus einer zylindrischen Glasröhre, in deren unterem Ende eine Glasfritte eingeschmolzen ist. Die verwendete Säule hat eine Schornsteinlänge von 80 mm und einen Innendurchmesser von 10 mm. Ein trichterförmig erweiterter Rand erleichtert das Einpipettieren des Serums. Für die folgenden Versuche verwenden wir Chromatographiesäulen mit G2-Fritten und watteabgedichtete Polyvinylsäulen, jeweils mit 1,8 ml IRA 400 pract.

Getestet werden 5 ml des "Jodid"-Serums. Dem Ionen-austauscher-Filtrat setzen wir 2,5 ml 40%ige TCE zu und bestimmen den Aktivitätsanteil im Präzipitat. Mit beiden Säulenarten erreicht man eine fast vollständige Abtrennung des Jodids. Im Durchschnitt finden sich nur 0,1 % des markierten Jodids im Eiweißniederschlag des Filtrats.

3.22 Die Abtrennung von Jodid in Abhängigkeit von Fritte und Ionenaustauscher

Die Untersuchungen werden mit zwei Fritten unterschiedlicher Porengröße vorgenommen:

Typ G1 Porendurchmesser 90 μ m bis 150 μ m
Typ G2 Porendurchmesser 40 μ m bis 90 μ m

Als Ionenaustauscher verwenden wir sowohl Ioresin-Suspension (Fa. Abbott), als auch IRA 400 pract. (Rohm u. Haas). Nebeneinander werden 1,2 ml, 1,8 ml und 2,4 ml der beiden Harze in die Säulen eingeschlämmt. Durch die so vorbereiteten Chromatographiesäulen geben wir "Jodid"- und "Hormon"-Serum. Anschließend wird mit 2 ml destilliertem Wasser nachgewaschen. Die Aktivität der einzelnen Serumproben wird vor und nach dem Durchgießen durch die Säule gemessen und, falls erforderlich, eine Volumenkorrektur vorgenommen. Da diese, wie schon früher erwähnt, bei den großen Flüssigkeitsmengen des Filtrats mit erheblichen Fehlern verbunden ist, wird das im Filtrat befindliche PG*J mit TCE gefällt und der Niederschlag gemessen; in diesem Fall ist wegen des geringen Volumens eine Korrektur nicht erforderlich. Zur Fällung verwenden wir bei den 1ml-Versuchen 4 ml 20%ige TCE. Bei den Versuchen mit 5 ml Serum mußten wir wegen des größeren Volumens mit 2,5 ml 40%ige TCE fällen.

Der prozentuale Anteil der Aktivität im Eiweißniederschlag ist in den Tabellen 4 und 5 zusammengestellt. Die Messungen erlauben folgende Schlüsse:

1. Porengröße der Fritte

Gegenüber dem "Jodid"-Serum verhalten sich beide Fritten gleich. Beim "Hormon"-Serum dagegen bleibt im Ionenaustauscherharz der feineren G2-Fritte mehr Aktivität zurück. Der Unterschied beträgt bei den 5ml-Versuchen durchschnittlich 1,2 %, bei den 1ml-Versuchen durchschnittlich 3,2 % der verabreichten Gesamtaktivität. 5 ml Serum durchlaufen die G1-Fritte in etwa 1/2 Minute, die G2-Fritte in durchschnittlich 2 Minuten.

2. Art des Ionenaustauschers

Beide Ionenaustauscher adsorbieren das Jodid nahezu vollständig. Der im Präzipitat des Filtrats von "Jodid"-Serum enthaltene Aktivitätsanteil beträgt durchschnittlich 0,1 %.

Dagegen ist bei Verwendung des Ionenaustauschers IRA 400 pract. gegenüber Ioresin die Aktivität im Präzipitat des Filtrats bei 1 ml "Hormon"-Serum um durchschnittlich 6,6 %, bei 5 ml "Hormon"-Serum um 3,7 % geringer.

3. Menge des Ionenaustauschers

1,2 ml IRA 400 genügen, um das Jodid nahezu vollständig, d.h. bis auf 0,2 % aus dem Serum zu entfernen. Nimmt man 1,8 ml des Ionenaustauschers, so wird der Anteil der fälschlich dem PG^*J zugeschriebenen Aktivität nochmals auf die Hälfte reduziert.

Beide Ionenaustauscher halten mit zunehmender Menge des Harzes mehr PG^*J zurück. Der Verlust an proteingebundenem radioaktivem Jod bei größerer Menge des Ionenaustauschers macht sich besonders stark bei den 1ml-Versuchen bemerkbar.

Tab. 4: Anteil des radioaktiven Jods im Filtrat (TCE-Präzipitat) in Abhängigkeit von Fritte und Ionenaustauscher bei "Jodid"-Serum

Art des Ionenaustauschers und der Fritte		1 ml Serum		5 ml Serum	
		Menge des Ionenaustauschers 1,2 ml	Menge des Ionenaustauschers 1,8 ml 2,4 ml	Menge des Ionenaustauschers 1,2 ml 1,8 ml	2,4 ml
Ioresin-Suspension	G1	0,10%	0,10%	0,20%	0,03%
	G2	0,17%	0,09%	0,12%	0,02%
IRA 400 pract.	G1	0,14%	0,10%	0,26%	0,03%
	G2	0,12%	0,07%	0,20%	0,03%

Tab. 5: Anteil des radioaktiven Jods im Filtrat (TCE-Präzipitat) in Abhängigkeit von Fritte und Ionenaustauscher bei "Hormon"-Serum

Art des Ionenaustauschers und der Fritte	1 ml Serum			5 ml Serum	
	Menge des Ionenaustauschers			Menge des Ionenaustauschers	
	1,2 ml	1,8 ml	2,4 ml	1,2 ml	2,4 ml
Ioresin-Suspension	G1	89,4%	86,4%	86,7%	83,7%
	G2	89,9%	82,1%	81,7%	82,9%
IRA 400 pract.	G1	86,0%	80,3%	76,6%	80,4%
	G2	82,3%	74,1%	76,4%	78,5%

4. Menge des Serums

Bei den Versuchen mit 5 ml Serum ist die Abhängigkeit von der Porengröße der Fritte und von der Art und Menge des Ionenaustauschers geringer als bei den entsprechenden 1 ml-Versuchen.

Die oben angeführten Untersuchungen haben gezeigt, daß der Ionenaustauscher IRA 400, Reinheitsgrad pract., einen höheren Anteil des Hormonjods zurückhält, als die Ioresin-Suspension. Zur Ergänzung führen wir deshalb weitere Untersuchungen mit IRA 400 pro analysi durch. Die Ergebnisse sind in Tab. 6 zusammengefaßt.

Bei Verwendung von IRA 400 p. a. ergeben sich zwischen den beiden Fritten kaum Unterschiede. Der Anteil des durch den Ionenaustauscher festgehaltenen Hormonjods ist kleiner als bei IRA 400 pract und sogar geringer als bei der Ioresin-Suspension. (vgl. Tab. 5).

Tab. 6: Anteil des radioaktiven Jods im Filtrat (TCE-Präzipitat) in Abhängigkeit von der Fritte für den Ionenaustauscher IRA 400 p.a. (1 ml Serum)

Modell-Serum	Fritte G1	Fritte G2
I. "Jodid"-Serum	0,13%	0,13%
II. "Hormon"-Serum	88,8%	88,1%
III. "Jodid-Hormon"- Serum	89,0%	88,2%
I + II	89,1%	88,2%

3.23 Sättigung des Ionenaustauschers

Die Frage, ob Ionenaustauscher-Säulen nur einmal oder mehrmals hintereinander verwendet werden können, ist für Routineuntersuchungen wichtig. Zu dieser Prüfung verwenden wir Chromatographiesäulen mit 1,8 ml des Ionenaustauschers IRA 400 p.a.

3.231 Die Sättigung bei "Hormon"-Serum

Zunächst geben wir durch ein und dieselbe Säule insgesamt 30 Proben von jeweils 5 ml "Hormon"-Serum. Hierzu wird das Serum eines ^{131}J -Therapiepatienten mit nicht-radioaktivem Serum so verdünnt, daß die Impulsrate etwa 150 000 Ipm pro 5 ml Serum beträgt. Wie üblich wird bei jeder Serumprobe mit 2 ml destilliertem Wasser nachgespült und diese Waschflüssigkeit mit dem Filtrat vereinigt. Bei diesen Sättigungsversuchen wird die Säule anschließend mit 25 ml aqua dest. nachgewaschen, um eine Verschleppung von Aktivität in die folgende Serumprobe auszuschließen. Zur Kontrolle des Auswaschvorgangs geben wir das destillierte Wasser in 5 Einzelportionen zu und messen jeweils die Aktivität der ersten und der letzten Fraktion.

Tab. 7 zeigt, daß auch nach 150 ml "Hormon"-Serum die Kapazität des Ionenaustauschers noch nicht erschöpft ist. Der Mittelwert des Aktivitätsanteils im Präzipitat des Säulenfiltrats beträgt $89,2 \pm 0,6 \%$. Zwischen den ersten und letzten 10 Proben (Mittelwerte $89,1 \pm 0,6$ bzw. $89,9 \pm 0,4 \%$) steigt die Aktivität nur leicht, aber nicht signifikant an. Die Durchlaufzeit nimmt allerdings mit steigender Menge des durchgegossenen Serums beträchtlich zu: Sie wächst von 30 sec. auf etwa 8 min.

3.232 Die Sättigung bei "Jodid"-Serum

In Analogie zu den eben besprochenen Versuchen mit "Hormon"-Serum prüfen wir die Elimination des Ionenaus-

Tab. 7: Prüfung der Sättigung des Ionenaustauschers IRA 400 p.a. mit "Hormon"-Serum

Proben-Nr.	Aktivität im Filtrat (TCE-Präzipitat) %	Aktivität in der ersten Waschfraktion %
1	90,5	1,6
2	88,1	1,0
3	89,8	0,6
4	88,0	0,7
5	89,2	0,3
6	86,7	0,7
7	92,3	0,9
8	88,6	0,3
9	87,9	0,7
10	88,7	0,4
11	91,3	0,2
12	87,4	0,8
13	91,5	0,3
14	88,1	0,2
15	91,4	0,6
16	89,2	0,3
17	89,0	0,2
18	90,9	0,5
19	86,6	0,4
20	89,9	0,4
21	90,2	0,5
22	90,0	0,7
23	90,0	0,6
24	90,5	0,5
25	90,1	0,7
26	90,1	0,4
27	89,3	0,4
28	87,3	0,4
29	89,3	0,7
30	92,5	0,6

tauschers für "Jodid"-Serum. In Abb. 3 ist der prozentuale Anteil der Aktivität im Filtrat und im TCE-Niederschlag des Filtrats in Abhängigkeit von der Serummenge dargestellt. Bereits nach 15 ml Serum nimmt die Eliminationsfähigkeit des Ionenaustauschers für Jodid erheblich ab. Geht man jedoch von der Aktivität im TCE-Präzipitat aus, so bleibt der Fehler durch das nicht an die Säule adsorbierte Jodid bis 50 ml Serum in vertretbaren Grenzen.

Gibt man anstelle des "Jodid"-Serums eine wässrige Lösung von Na^{131}J durch die Säule, so beträgt die Aktivität des Filtrats konstant $0,10 \pm 0,03 \%$ (vgl. Abb.3). Hieraus kann man folgern, daß bei der Untersuchung mit "Jodid"-Serum die Kapazität des Ionenaustauschers nicht erschöpft ist, sondern daß das Ansteigen der Aktivität im Filtrat offensichtlich durch eine "Regeneration" des Ionenaustauschers durch das im Serum enthaltende Chlorid hervorgerufen wird.

3.24 Praktische Folgerungen für die Ionenaustauschermethode

1. Von den geprüften Ionenaustauscher-Säulen bietet die Chromatographiesäule mit G1-Fritte die größten Vorteile. Die Trennung von Jodid und PGJ ist für den Ionenaustauscher IRA 400 mit dem Reinheitsgrad p.a. nahezu ebenso gut wie bei der G2-Fritte. Die Durchlaufzeit für 5 ml beträgt bei der G2-Fritte 120 sec., bei der G1-Fritte dagegen nur 30 sec.
2. Von den drei verwendeten Ionenaustauscher-Harzen Ioresin-Suspension, IRA 400 pract. und IRA 400 p.a. hat der letztgenannte die besten Trennungseigenschaften.
3. 1,2 ml Ionenaustauscherharz IRA 400 p.a. sind ausreichend.
4. Aus meßtechnischen Gründen (Volumenkorrektur) und zur Verminderung nicht adsorbierten Jodids wird vor allem für größere Serumengen die Fällung des Säulenfiltrats

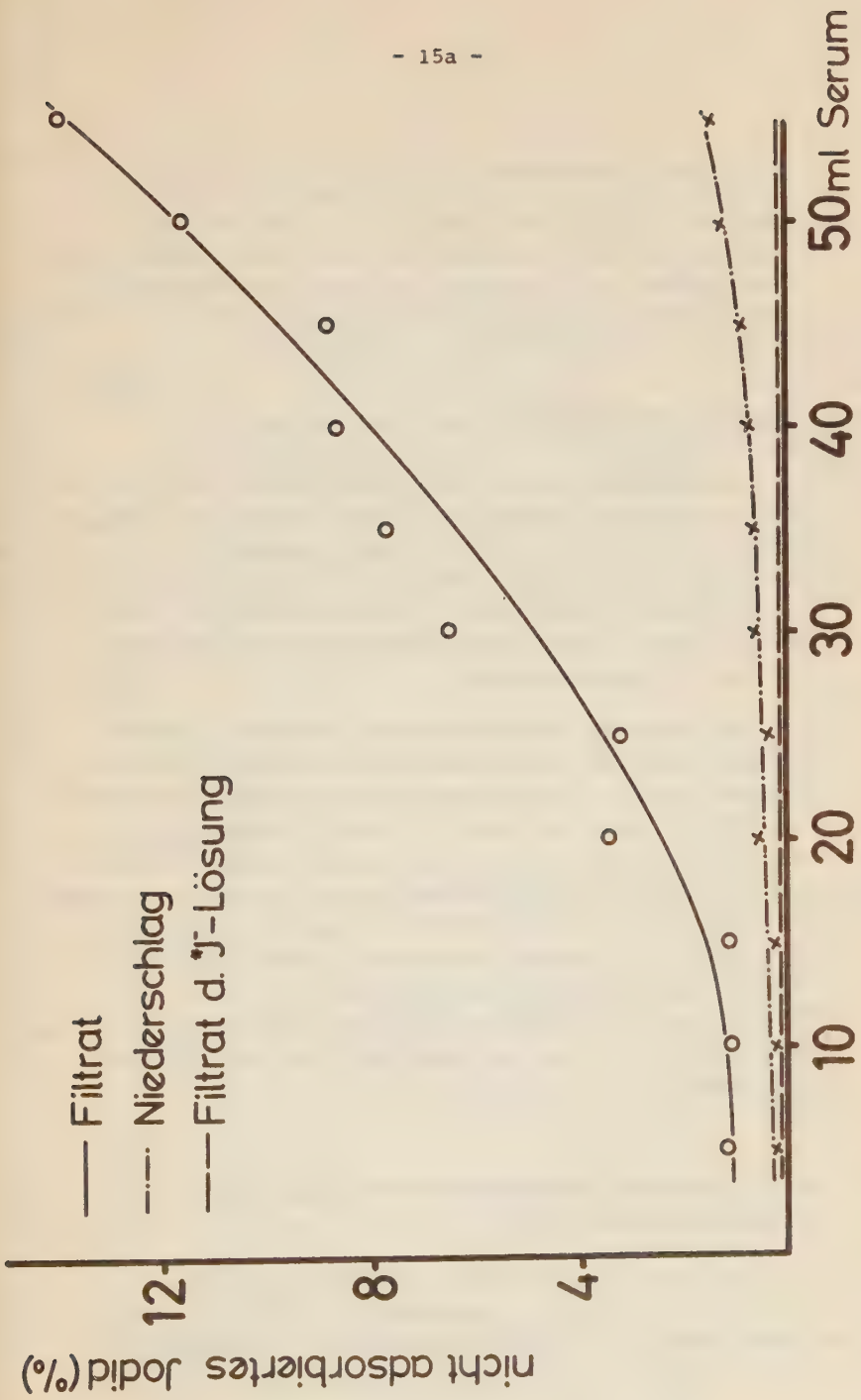


Abb. 3: Eliminationsfähigkeit für "Jodid"-Serum in Abhängigkeit von der Serummenge

mit TCE vorgeschlagen.

5. Ein und dieselbe Ionenaustauscher-Säule kann bei diesem Vorgehen für mindestens 50 ml Serum verwendet werden, wenn zwischen den einzelnen Serumproben mit destilliertem Wasser nachgespült wird.

3.3 Vergleich von Ionenaustauscher- und TCE-Methode

In Simultan-Versuchen vergleichen wir die Ionenaustauscher- und die TCE-Methode. Hierzu führen wir Paralleluntersuchungen mit je 1,8 ml Ioresin-Suspension und IRA 400 p.a. sowie mit 10 bzw. 20%iger TCE durch. Als Modellseren benutzen wir wieder "Jodid"-Serum, "Hormon"-Serum und "Jodid-Hormon"-Serum. Die Mittelwerte der Doppelbestimmungen sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Im Gegensatz zu dem anfänglich benutzten Ionenaustauscher IRA 400 mit dem Reinheitsgrad pract. (vgl. Tab. 5 u. 6) ist der jetzt verwendete mit dem Reinheitsgrad p.a. dem Ioresin überlegen (Tab. 8). Beide Ionenaustauscher halten das Serumjodid fast vollständig zurück. Der Jodidgehalt im Niederschlag der TCE-Fällung ist dagegen selbst bei zweimaligem Waschen mehr als doppelt so hoch. Allerdings sind die Verluste an Hormonjod etwas geringer als bei der Verwendung von Ionenaustauschern.

Ein weiterer wesentlicher Vorteil der Ionenaustauschermethode ist aber die Verkürzung der Zeit für die Bearbeitung im Labor auf die Hälfte.

3.4 Abhängigkeit der Untersuchungsergebnisse von der Aktivitätskonzentration

Alle bisherigen Untersuchungen werden mit Aktivitäten von 20 bis 100 nCi durchgeführt, um bei kurzen Meßzeiten die statistische Schwankungsbreite vernachlässigen zu können. In klinischen Tests ist aber oft mit Ge-

Tab. 8: Vergleich von TCE- und Ionenaustauscher-Methode zur Trennung von anorganischem und organischem Jod

1ml-Serumproben

Modell-Serum	TCE-Fällung (10%ig)		Trennung durch Ionenaustauscher			
	1. Waschg.	2. Waschg.	Ioresin-Susp. Filtrat	Niederschlag	IRA 400 p.a. Filtrat	Niederschlag
I "Jodid"-Serum	1,1%	0,5%	0,3%	0,2%	0,3%	0,1%
II "Hormon"-Serum	94,1%	92,5%	86,9%	81,0%	90,1%	84,6%
III "Jodid-Hormon"-Serum	96,0%	93,0%	87,2%	81,8%	92,0%	85,6%
I + II	95,2%	93,0%	87,2%	81,2%	90,4%	84,7%

5ml-Serumproben

Modell-Serum	TCE-Fällung (20%ig)		Trennung durch Ionenaustauscher	
	1. Waschg.	2. Waschg.	Ioresin-Susp. Niederschlag	IRA 400 p.a. Niederschlag
I "Jodid"-Serum	1,8%	0,5%	0,1%	0,2%
II "Hormon"-Serum	89,4%	87,8%	82,3%	87,1%
III "Jodid-Hormon"-Serum	92,0%	89,4%	82,4%	88,6%
I + II	91,2%	88,3%	82,4%	87,3%

Tab. 9: Prüfung der Trennung von $^{125}\text{J}^-$ und PG^{125}J in Abhängigkeit von der Aktivitätskonzentration des Serums bei der Ionenaustauscher- (IRA 400 p.a.) und der TCE-Methode (10%ig)

Aktivitätskonzentration	"Jodid"-Serum		"Hormon"-Serum	
	Ionenaustauscher-Methode Niederschlag %	TCE-Methode 1. Waschung %	Ionenaustauscher-Methode Niederschlag %	TCE-Methode 1. Waschung %
20 nCi/ml	0,2 ± 0,04	1,8 ± 0,06	89,5 ± 0,4	95,5 ± 0,4
4 nCi/ml	0,9 ± 0,3	3,4 ± 0,3	89,0 ± 0,8	96,6 ± 1,0
0,8 nCi/ml	1,1 ± 1,2	5,4 ± 1,4	90,6 ± 1,7	94,1 ± 2,1
0,16 nCi/ml	nicht auswertbar	10 ± 5	88,3 ± 3,6	87,9 ± 4,5

samtaktivitäten von weniger als 0,1 nCi (entsprechend 135 Netto-Impulsen pro Minute) zu rechnen. Um zu prüfen, ob Unterschiede in der Aktivitätskonzentration ohne Einfluß bleiben, werden Verdünnungsversuche durchgeführt. Hierzu verwenden wir 1 ml-Proben von "Hormon"- bzw. "Jodid"-Serum. Die Ausgangsaktivität beträgt 20 nCi/ml (27000 Ipm/ml). Die Ionenaustauscher-Werte werden dreifach, die TCE-Werte doppelt bestimmt.

Die Ergebnisse sind mit ihrem mittleren Fehler in Tab. 9 dargestellt. Der statistische Fehler wird naturgemäß mit zunehmender Verdünnung größer. Zwischen 20 und 4 nCi/ml nimmt mit sinkender Aktivitätskonzentration der Jodidanteil im Präzipitat des Filtrats signifikant zu. Dagegen läßt der Niederschlag des Filtrats von "Hormon"-Serum keinen Einfluß der Aktivitätskonzentration erkennen.

3.5 Anwendung in der Schilddrüsendiagnostik

Die vorausgegangenen Experimente zeigen, daß die Ionenaustauscher-Methode gegenüber der TCE-Fällungsmethode erhebliche Vorteile bietet.

Die klinische Brauchbarkeit des erarbeiteten Verfahrens mit dem Ionenaustauscher IRA 400 p.a. prüften wir durch Vergleich mit der TCE-Methode. Im Rahmen des Radiojod-Zweiphasentests wurde bei einigen Patienten das 2-Stunden- und das 48-Stunden-PG¹³¹J bestimmt. Wie in den vorausgegangenen experimentellen Untersuchungen bildeten wir das Verhältnis von proteingebundenem zu Gesamtserum-Jod. Dieser Quotient stellt bekanntlich die sogenannte Umwandlungsrate dar, die sich als wertvoller Parameter für die Hormonphase erwiesen hat.

Die Umwandlungsraten, die mit der TCE- und Ionenaustauschermethode ermittelt wurden, sind in Abb. 4 graphisch dargestellt. Die Gegenüberstellung beider Methoden zeigt, daß die Aussagekraft des Ionenaustauscherverfahrens mindestens so gut ist wie die der Trichloressigsäurefällung. Durch die einfachere Methodik und die erhebliche Zeitersparnis ist die Ionenaustauschermethode aber dem bisherigen Vorgehen überlegen.

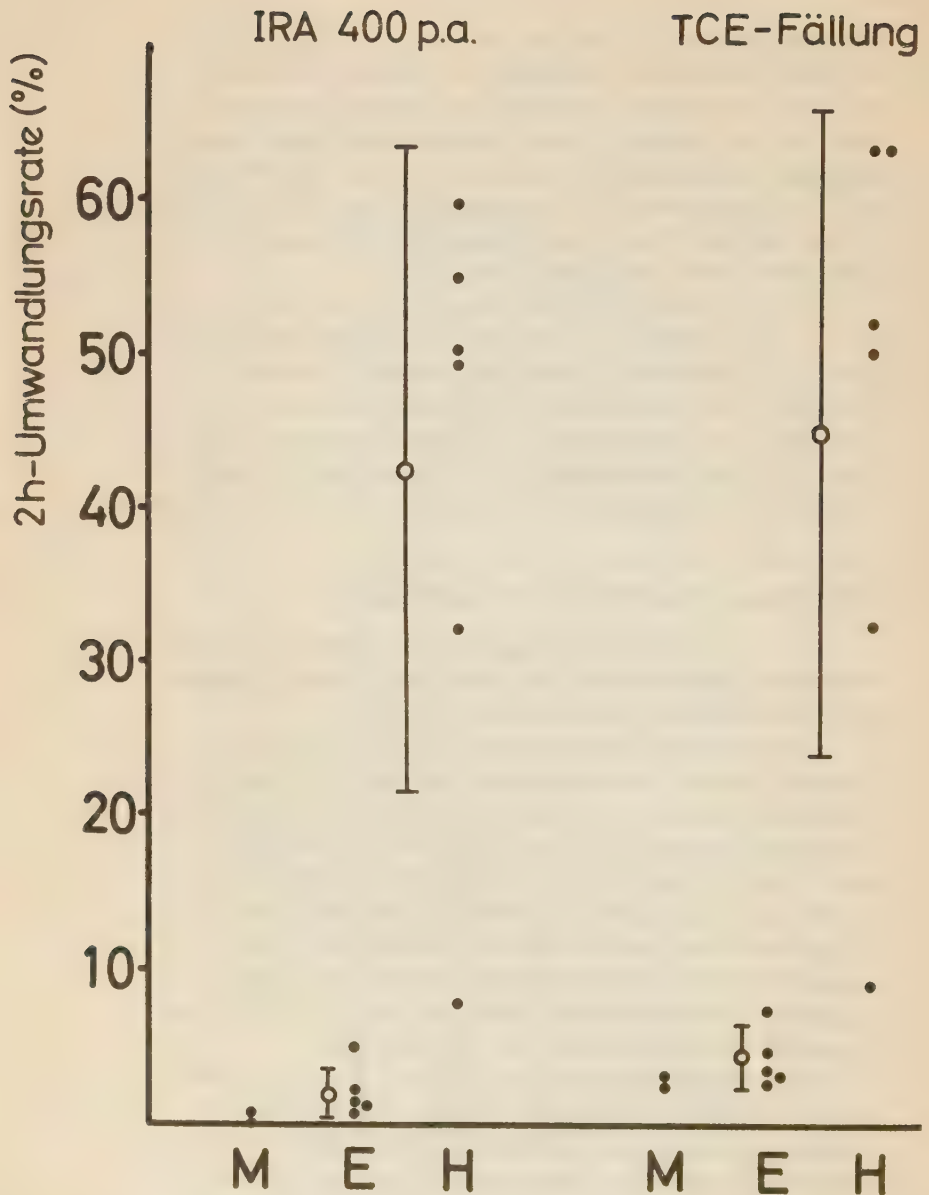


Abb. 4: Werte und 2s-Bereich der Zweistunden-Umwandlungsrate mit Ionenaustauscher- und TCE-Methode (M = Hypothyreose, E = Euthyreose, H = Hyperthyreose)

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

4.1 Allgemeine Probleme bei der Messung des PG^{*}J

Gesamtserum ^{131}J bzw. proteingebundenes ^{131}J werden im allgemeinen beim Radiojod-Zweiphasentest routinemäßig nach 24 Stunden (3,5,9,10,13,14,16,22) oder nach 48 Stunden (1,7,25) bestimmt. Bei der heute meist üblichen Testdosis von 25 μCi ^{131}J ist die Aktivität im PG^{131}J bei Verwendung von 1 ml Serum oft so gering, daß mit erheblichen Fehlern zu rechnen ist. In noch stärkerem Maße gilt dies für das Zweistunden- PG^{131}J , das zur Ermittlung der Umwandlungsrate bestimmt wird (1). Da für Routineuntersuchungen die Meßzeit nicht zu lange sein darf, haben wir unsere Untersuchungen außer mit 1 ml- auch mit 5 ml-Serumproben durchgeführt. Die in der Literatur angegebenen Serum-mengen variieren zwischen 1,0 (1,3,25) und 6 ml (7).

Bei den 5 ml-Proben sind einige Besonderheiten zu beachten:

1. Das begrenzte Volumen der Zentrifugengläser verlangt sowohl bei der TCE-Methode, als auch zum Fällern des Eiweißes im Ionenaustauscher-Filtrat eine höhere Konzentration der TCE.
2. Bei 5 ml Gesamtserum und vor allem bei den noch höheren Volumina der Überstände muß die Impulsrate mit Hilfe einer Kurve korrigiert werden (vgl. Abb. 1). Diese Volumenkorrektur führt aber wegen der stark schwankenden Innendurchmesser der Gläser ab etwa 3 ml zu größeren Fehlern.
Eine Korrektur ist vermeidbar, wenn man das Präzipitat wieder in NaOH löst und auf das ursprüngliche Volumen des Gesamtserums verdünnt (7,25). Dieses Verfahren ist jedoch umständlich und kann ebenfalls zu Meßfehlern führen, wenn die Lösung nicht homogen ist.

Die Unsicherheit bei der Volumenkorrektur wird geringer, wenn man bei der Ionenaustauscher-Methode nicht das Filtrat, sondern nur dessen TCE-Präzipitat mißt. Diese Maßnahme hat den weiteren Vorteil, daß der Fehler durch nicht eliminiertes Jodid auf einen Bruchteil verringert wird.

Zur Bestimmung des PG^*J im Serum von Schilddrüsenpatienten werden verschiedene Verfahren angegeben. Am meisten verbreitet ist die Fällung des proteingebundenen Jods mit TCE (1,2,3,5,8,9,10,11,12,13,14,15,16,23,25) und die Verwendung eines Ionenaustauschers zur Abtrennung von anorganischem Jod (4,6,8,10,17,18,19,21,24,25,26).

4.2 Trichloressigsäure-Fällung

Die PG^*J -Abtrennung durch TCE-Fällung des Eiweißes wird in zahlreichen Variationen durchgeführt. Wir verwendeten bisher die TCE-Methode in der eingangs erwähnten Modifikation nach CLARK (3). Vor allem bei der Bestimmung der Zweistunden-Umwandlungsrate traten aber erhebliche Fehler, vermutlich durch mitgefälltes Jodid, auf (1). Wir stellten uns daher die Frage, ob die TCE-Methode zu verbessern und zu vereinfachen ist.

Die einzelnen Autoren verwenden Trichloressigsäure in unterschiedlicher Konzentration. Diese schwankt zwischen 10 % (1,2,3,25) und 40 % (5,10,11,14). Wir selbst haben Untersuchungen mit 2 Modellseren, nämlich mit "Jodid"- und "Hormon"-Serum (vgl. S. 4) unter Verwendung von 2,5, 10, 20 und 40%iger TCE durchgeführt. Bei sehr niedriger Konzentration der Säure wird ein hoher Prozentsatz des Jodids mit dem Eiweiß gefällt; bei sehr hoher Konzentration nimmt die PG^*J -Aktivität im Eiweißpräzipitat beträchtlich ab.

Erklärungsversuche geben FITTING (8), WINKLER et al. (25) und IMARISIO et al. (10). Diese Autoren sind der Meinung, daß bei der Eiweißfällung anorganisches Jod mitgerissen wird. FITTING (8) deutet dies in Überein-

stimmung mit vorangehenden Arbeiten teilweise damit, daß 2 bis 6 % des Jodids physikalisch-chemisch an Eiweiß gebunden würden. Andererseits sei es auch denkbar, daß proteingebundenes Jod abgebaut werde und daß im Serum organisches Jod in wasserlöslicher, nicht proteingebundener Form vorhanden sei. Unsere Beobachtung, daß mit höherer TCE-Konzentration die PG^*J -Aktivität im Präzipitat abnimmt, kann gut durch einen solchen Abbau erklärt werden.

Da insbesondere bei größerer Serummenge und niedriger Konzentration der TCE ein erheblicher Teil des Jodids mit ausgefällt wird, ist ein Waschen des TCE-Niederschlags unbedingt erforderlich. Bei der Fällung treten meist Verklumpungen des Niederschlags auf, die zu Einschlüssen von Jodid führen können. Daher achten wir beim Waschen sorgfältig darauf, diese Zusammenballungen mechanisch aufzulösen. Nach unseren Ergebnissen genügt für die Bestimmung des PG^*J nach 48 Stunden, die mit 1 ml Serum durchgeführt werden, ein einmaliges Waschen. Bei den 5 ml-Proben, wie wir sie für die Zweistunden-Umwandlungsrate verwenden, ist jedoch ein zweifaches Waschen zu empfehlen.

Im Schrifttum ist die Zahl der Waschungen und die Konzentration der TCE sehr verschieden angegeben. Die Mehrzahl der Autoren wäscht das Eiweißpräzipitat zweimal. Hierzu wird TCE in gleicher oder in niedriger Konzentration als zur Fällung verwendet (1,3,9,13,14,25). Manche Verfasser waschen sogar drei- (5,7) oder viermal (10,22).

4.3 Abtrennung des Jodids durch Ionenaustauscherharze

Methodisch einfacher ist die Bestimmung des proteingebundenen radioaktiven Jods durch Elimination des Jodids mittels eines Anionenaustauschers. Das erstmals von REILLY et al. 1954 (17,18) angegebene Verfahren wurde in der Folgezeit von verschiedenen Autoren zur Schilddrüsendiagnostik angewandt. Zu unseren Untersu-

chungen haben wir anfangs, wie WINKLER et al. (25), Polyvinylsäulen benutzt. Die genannten Autoren waren jedoch mit dieser Säule nicht ganz zufrieden, da ein sicherer Abschluß durch Filterpapierscheibchen nicht gewährleistet sei. Obwohl wir mit der gleichen Säule bei Abdichtung mit Filterpapier gleich gute Ergebnisse wie mit Watte oder Glaswolle erzielten, sind die erhobenen Bedenken nicht zu entkräften. Da zudem die Vorbereitung der Polyvinylsäule recht umständlich ist, gingen wir zu Chromatographiesäulen mit eingeschmolzener Glasfritte über, die gleichmäßigere Versuchsbearbeitungen ergeben und leicht zu säubern sind.

Außer IRA 400 (6,10,24,25,31) werden in der Literatur noch Dowex 2 X 10, 200 - 400 mesh (17,18,19,20), Dowex 1 X 8, 50 - 100 mesh (12) und Ioresin-Suspension (12,25) zur Elimination von Jodid verwendet. Ein Vergleich von Ioresin und IRA 400 p.a. zeigt keinen wesentlichen Unterschied in der Trennung des Serums. Für IRA 400 p.a. sind die Ergebnisse sogar etwas besser als für Ioresin-Suspension. Außerdem ist IRA 400, Reinheitsgrad p.a. erheblich billiger als Ioresin.

Im Vergleich zu der TCE-Methode tritt bei der Ionenaustauscher-Säule ein etwas höherer Verlust an PG^*J auf, der mit steigender Menge des Harzes zunimmt. Deshalb haben wir uns für eine Menge von 1,8 ml IRA 400 entschieden.

Jodid wird mit Ionenaustauschern wesentlich besser eliminiert als bei der TCE-Methode. Gerade diese Tatsache ist bei dem normalerweise sehr hohen Jodid/ PGJ -Verhältnis zum Zeitpunkt von 2 Stunden wünschenswert.

Für die praktische Anwendung der Ionenaustauschermethode ist die Frage bedeutsam, ob ein und dieselbe Säule mehrfach benutzt werden kann. Unsere diesbezüglichen Versuche mit "Jodid"-Serum zeigen schon nach 15 ml ein kontinuierliches Anwachsen des Jodids im Säulen-Filtrat (vgl. Abb. 3). In der Praxis wird der hierdurch

entstehende Fehler vermindert, da wir das PG^*J im Filtrat mit TCE fällen. Der Jodidanteil im Niederschlag bleibt durch diese Maßnahme bis zu 50 ml Serum unter 1 % der in der Probe enthaltenen Jodaktivität.

Gießt man dagegen eine wäßrige Lösung von Na^*J durch die Säule, so bleibt die Aktivität im Filtrat konstant bei durchschnittlich 0,1 % (vgl. Abb. 3). Das gleiche Ergebnis erhält man, wenn man in Anschluß an die Passage von 50 ml "Jodid"-Serum eine Probe Na^*J in aqua destillata durch die Säule gibt. Andererseits findet sich bei benützter Säule im Filtrat von inaktiver physiologischer Kochsalzlösung ungefähr dieselbe Impulsrate wie bei Zugabe der gleichen Menge aktiven "Jodid"-Serums. Der beobachtete "Sättigungseffekt" wird demnach nicht durch die Erschöpfung des Austauschers hervorgerufen, sondern er ist die Folge einer fortlaufenden Regeneration durch die im Serum enthaltenen Cl^- Ionen.

4.4. Abhängigkeit von der Aktivitätskonzentration

Überraschend zeigte sich, daß bei beiden Methoden die Trennung von Jodid und PG^*J von der Aktivitätskonzentration abhängt. Zwischen den Konzentrationen 20 nCi/ml und 4 nCi/ml treten bei "Jodid"-Serum signifikante Unterschiede der Aktivität im Eiweiß-Niederschlag auf (vgl. Tab. 9): Die Impulsrate im Eiweißpräzipitat verringert sich nicht in gleichem Maße, wie es nach der Verdünnung der Gesamtaktivität des Jodids der Fall sein müßte. Möglicherweise erklärt sich dieses Verhalten daraus, daß das zugesetzte ^{131}J nahezu trägerfrei ist. Für diese Annahme spricht, daß die entsprechenden Werte in den Tabellen 2 und 8, die unter Verwendung von inaktivem Trägerjodid erhalten wurden, niedriger liegen. Der Effekt ist besonders groß bei der TCE-Methode und stimmt mit den Beobachtungen bei euthyreoten Patienten überein. Hier zeigt die Umwandlungsrate bei der TCE-Fällung höhere Werte als bei der Ionenaustauschermethode (vgl. Abb. 4).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die bisher zur Bestimmung des radioaktiven Jods im Serum benutzte Trichloressigsäure-Fällungsmethode ist verbesserungsbedürftig. Fehler, die hierbei auftreten, werden experimentell untersucht und der Einfluß der Säurekonzentration und des Nachwaschens geprüft.

Einfacher und besser läßt sich anorganisches Jod von Hormonjod durch Anionenaustauscher abtrennen. In Modellversuchen werden verschiedene Säulentypen, Ionenaustauscherarten und Harzmengen verglichen. Am besten bewähren sich Chromatographiesäulen mit Glasfritte, die mit 1,8 ml IRA 400 (Cl) p.a. gefüllt sind. Alle Untersuchungen werden für Serummengen von 1 ml und 5 ml durchgeführt.

Bei dem beschriebenen Verfahren kann eine Chromatographiesäule für insgesamt 50 ml Serum verwendet werden, ehe sich eine "Sättigung" des Ionenaustauschers störend bemerkbar macht. Bei einigen Patientenserum bestimmten wir das proteingebundene ^{131}J simultan nach beiden Methoden. Die Brauchbarkeit des Ionenaustauscherverfahrens für die Klinik konnte durch diese Vergleichsuntersuchungen bestätigt werden.

An dieser Stelle möchte ich Herrn

Priv.-Doz. Dr.med. Wilhelm Börner

für die freundliche Überlassung des Themas danken,
für seine Sorgfalt bei der Korrektur, seine vielen
wertvollen Hinweise und seinen vorbildlichen Einsatz
wenn es galt, Schwierigkeiten zu überwinden.

Dem Direktor der Klinik, Herrn

Prof. Dr. med. Hans Franke

danke ich ergebenst für die Durchsicht der Arbeit
und für die Möglichkeit, an seiner Klinik arbeiten
zu dürfen.

Herrn

Dipl.-Phys. Erich Moll

danke ich für seine Einführung in das Arbeiten mit
Radioisotopen und seine eingehende Unterrichtung
über physikalisch-chemische Fragen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Börner, W., E. Moll:
Die frühe Erfassung der Hormonphase bei der Schilddrüsenfunktionsstörung mit Radiojod durch die Zweistunden-Umwandlungsrate.
Klin. Wschr. 43 (1965), 78;
2. Chaikoff, I.L., A. Taurog, W.O. Reinhardt:
The metabolic significance of protein-bound iodine of plasma: A study of its concentration under various conditions and of its rate of formation as measured with radioactive iodine.
Endocrinology 40 (1947), 47;
3. Clark, D.E., R.H. Moe, E.E. Adams:
The rate of conversion administered inorganic radioactive iodine into protein-bound iodine of plasma as an aid in the evaluation of thyroid function.
Surgery 26 (1949), 331;
4. Dorfner, K.:
Ionenaustauscher, Eigenschaften und Anwendung.
de Gruyter, Berlin 1963;
5. Fields, T., E. Kaplan:
Simplified procedure for determination of PB¹³¹I in blood.
J. Lab. clin. Med. 43 (1954), 960;
6. Fields, T., D.S. Kinnory, E. Kaplan, Y.T. Oester, E.N. Bowser:
The determination of protein-bound ¹³¹iodine with anion exchange resin column.
J. Lab. clin. Med. 47 (1956), 333;
7. Fitting, W., A.W. Eiff:
Über den diagnostischen Wert von Radiojod-Test, Grundumsatz und "Grundumsatz im engeren Sinn" für die Beurteilung der Schilddrüsenfunktion.
Klin. Wschr. 34 (1956), 486;

8. Fitting, W.:
Zur Bestimmung des anorganischen Jods im menschlichen Serum.
Klin. Wschr. 42 (1964), 744;
9. Ghaliounghi, P., K. Shawarby:
Radio-iodine studies in endemic goitre in the Lybian desert.
Proc. 2nd. UN Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy 26 (1958), 56;
10. Imarisio, J.J., B.B. Kotolowsky, A.A. Imperato:
Dialysis method für $PB^{131}I$ determination compared with TCA and resin column techniques.
J. Lab. clin. Med. 60 (1962), 526;
11. Lepp, A., H. Pena, V. Hoxie, L. Oliner:
Protein-bound iodine determination with stable end point.
Amer. J. clin. Path. 44 (1965), 331;
12. Lundval, Ol, S. Johnson, B. v. Porat:
The diagnostic value of protein-bound radioiodine estimation in an endemic goitre region.
Acta med. Scand. 177 (1965), 359;
13. van Middlesworth, L., C.E. Nurnberger, A. Lipscomb:
Simplified sensitive test for the thyroid function, using protein-bound ^{131}I .
14. Oliner, L., R.M. Kohlenbrener, T. Fields, R.H. Kunststadter:
Thyroid function studies in children: Normal values for the thyroidal ^{131}I uptake and $PB^{131}I$ levels up to the age of 18.
J. clin. Endocr. 17 (1957), 61;
15. Owen, Ch.A. jr.:
Diagnostic radioisotopes.
C.C. Thomas, Springfield, Ill. 1959;

16. Prasad, A., A. Doscherholmen, E.B. Flink:
Simple method for determining thyroid conversion ratio.
Amer. J. clin. Path. 28 (1964), 273;
17. Reilly, W.A., K.G. Scott, R. Winters:
Determination of plasma thyroid hormone using ^{131}I and anionic resin.
Amer. J. Dis. Child. 88 (1954), 788;
18. Reilly, W.A., K.G. Scott, R.W. Winters, H.L. Helwig:
Anionic resin measurement of protein-bound ^{131}I in euthyroid children.
Amer. J. Dis. Child. 89 (1955), 572;
19. Slade, C.I.:
Application of a simple ion exchange technique to determination of serum or plasma protein-bound ^{127}I or protein-bound ^{131}I .
J. clin. Endocr. 16 (1956), 1122;
20. Scott, K.G., W.A. Reilly:
Use of anionic exchange resin for the determination of protein-bound ^{131}I in human plasma.
Metabolism 3 (1955), 120;
21. v. Schuching, S., A.F. Abt:
Clinical usefulness of consecutive four day ^{131}I serum-levels in thyroid disease.
J. Lab. clin. Med. 52 (1956), 121;
22. Schultz, A.L., S. Sandhaus, H.L. Demorest, L. Zieve:
Clinical value of the plasma butanol-extractable (thyroxine) ^{131}I in the diagnosis of hyperthyroidism and myxedema.
J. clin. Endocr. 14 (1954), 1062;
23. Taurog, A., J.D. Wheat, I.L. Chaikoff:
Nature of the ^{131}I compounds appearing in the thyroid-vein after injection of iodide ^{131}I .
Endocrinology 58 (1956), 121;

24. Vetter, H., N. Veall:
Radioisotopen-Technik in der klinischen Forschung
und Diagnostik.
Urban und Schwarzenberg, München u. Berlin, 1960
25. Winkler, C., Z. Zubrzycki, G. Mentzel:
Vergleichende Untersuchungen über Methoden zur
Bestimmung des eiweißgebundenen Radiojods im Plasma
bei Schilddrüsenfunktionsprüfungen.
Klin. Wschr. 38 (1955), 120;
26. Zieve, L., W. Vogel, A. Schultz:
Determination of protein-bound iodine with an
anion exchange resin.
Clin. Res. Proc. 3 (1955), 120;

LEBENS LAUF

Ich wurde am 18. 11. 1934 als Sohn des prakt. Arztes Alois Loewenheim und seiner Ehefrau Eva Käthe geb. Gilbert in Brückenau geboren.

Von 1940 bis 1945 besuchte ich die Volksschule Brückenau. Nach Wiederaufnahme des Unterrichtes 1946 trat ich in das Internat "Haus Andrae" in Königstein/Taunus ein, wo ich zunächst noch als Besucher der dortigen Volksschule, 1947 die Aufnahmeprüfung für das Realgymnasium Königstein ablegte.

Nach Wiedereröffnung der damaligen Städtischen Realschule Brückenau kehrte ich zum Wohnsitz meiner Eltern zurück, um hier 1957 die Reifeprüfung abzulegen.

Im Wintersemester 1957 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Würzburg. Nach dem Tode meines Vaters 1959 legte ich 1961 die ärztliche Vorprüfung ab und im Dezember 1964 die ärztliche Prüfung.

Von Februar 1965 bis Juni 1965 arbeitete ich als Medizinalassistent im St.Georg-Ritterorden-Krankenhaus Brückenau, von Juni 1965 bis Oktober 1965 an der Universitäts-Kinderklinik Würzburg und seit Oktober 1965 an der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Alois Loewenheim

BÖHLER-DRUCK

87 WÜRZBURG, Wirsbergstr. 10

Tel. 54143